ニッポン・ジーン

LAMP-FLP 遺伝子多型解析システム LF-8

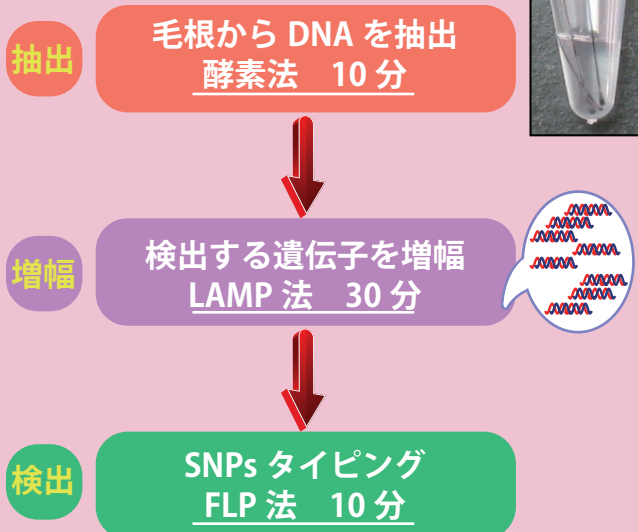
LF-8 は、新規遺伝子多型解析技術である LAMP-FLP 法を用いた遺伝子多型解析装置です。遺伝子増幅は LAMP 法による濁度測定により確認し、その後の多型解析は蛍光プローブを用いた会合曲線解析によって識別を行います。万一、遺伝子増幅あるいは多型解析のいずれかのステップで反応に失敗した場合は、装置がエラーをお知らせします。
操作は非常にシンプルで、START ボタンを押すだけで予めプログラムされた通りに遺伝子増幅から多型解析を行います。また、PC と接続して、専用ソフトウェア（LF-8 Manager）でお好みの条件にプログラムを変更する事も可能です。
遺伝子多型解析は装置が自動で判別して、LED ランプの点灯パターンによってその結果をお知らせします。

製品名	容量
LAMP-FLP遺伝子多型解析システム　LF-8	1台

注）LAMP 法は栄研化学株式会社が特許を保有しています。株式会社ニッポンジーンは、本品の開発、製造、および販売を許諾されています。

【非常にシンプルな操作】

START ボタンを押すだけで予めプログラムされた通りに反応と解析を行います。

【わずか数十分の解析時間】

【安価な価格設定】

装置構成	数量
LF-8 本体	1 台
電源アダプタ （電源アダプター及び電源ケーブル）	1 式
取扱説明書	1 冊

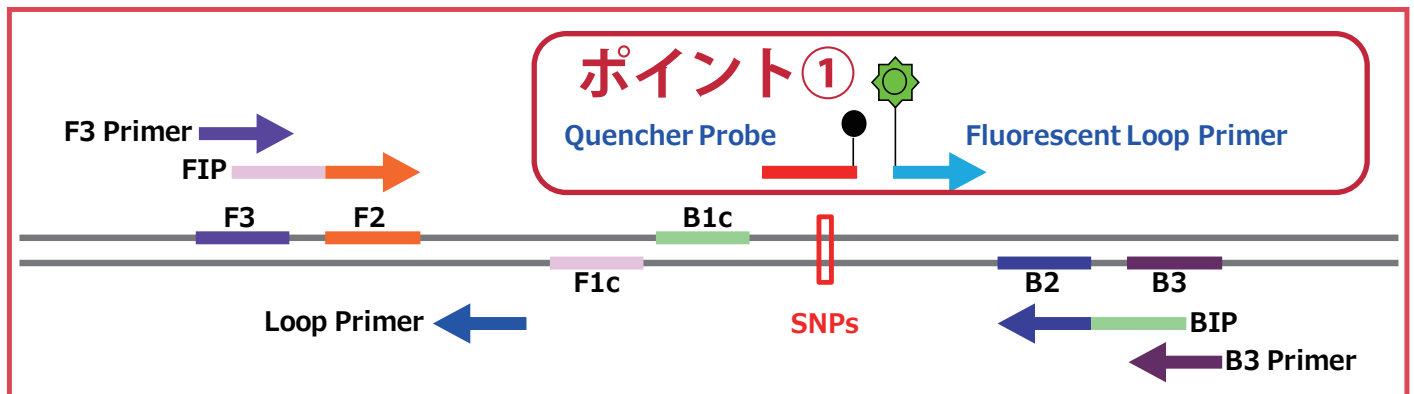
【反応結果の自動判別】

遺伝子多型の解析結果は、LED ランプの点灯パターンによってお知らせします。
また、反応に失敗した場合は、ランプが赤色に点灯して反応エラーをお知らせします。

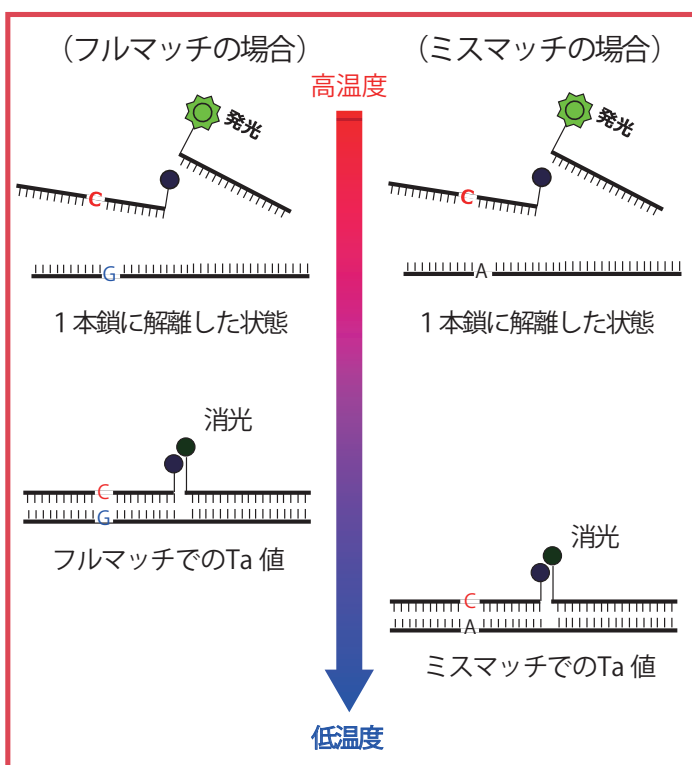
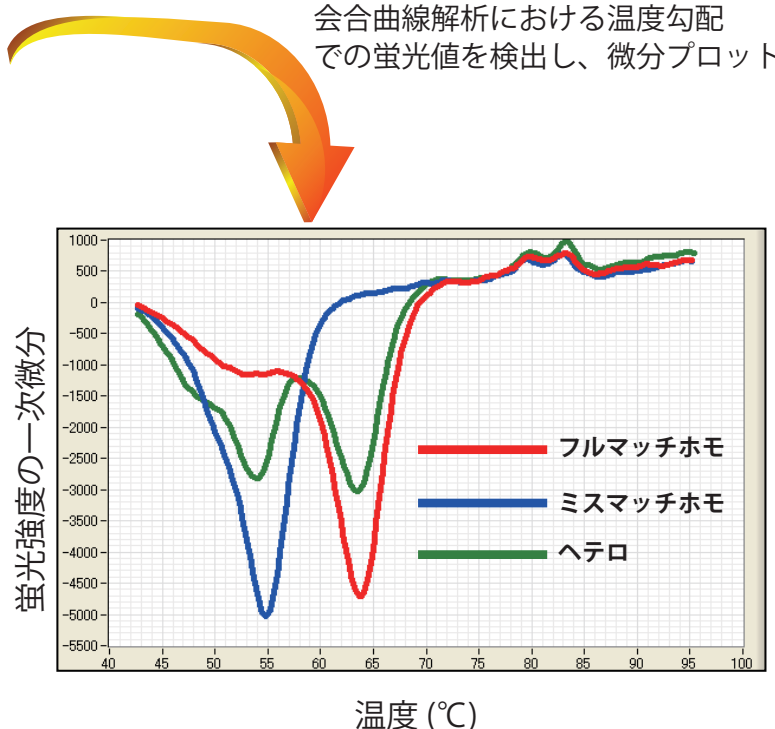
LAMP-FLP 法　（FLP : Fluorescent Loop Primer）

LAMP-FLP 法は、LAMP (Loop-mediated Isothermal Amplification) 法による遺伝子増幅と、蛍光共鳴エネルギー移動現象 (Fluorescence Resonance Energy Transfer) を利用して、遺伝子多型を簡便に検出することが出来る方法です。

◇ ステップ1 「増幅反応」

LAMP 法を用いて遺伝子多型領域（SNPs）を含む DNA を増幅します。
その時、SNPs 下流配列の 5′ 末端に蛍光標識が導入されるように Fluorescent Loop Primer と SNPs 領域に特異的にハイブリダイズする Quencher Probe も一緒に加えておきます。

◇ ステップ2 「会合曲線解析」

LAMP 法増幅産物を会合曲線解析します。
反応温度を高温にすることで LAMP 法増幅産物が 1 本鎖に解離します。
この時、Fluorescent Loop Primer と Quencher Probe もそれぞれ解離される為、蛍光を発光します。
その後、反応温度の低下に伴い、Fluorescent Loop Primer と Quencher Probe が再びハイブリダイゼーションすることで消光します。
Quencher Probe は SNPs 領域に設計されている為、フルマッチの方がミスマッチよりも高い温度で消光されます。

ポイント②

【実験例】Human ALDH2 (rs671) の遺伝子多型解析

ALDH2 遺伝子領域の遺伝子多型は、アルコール代謝産物であるアセトアルデヒドの代謝との関連が報告されています。

①鋳型 DNA の調製

被験者 3 人（A , B ,C）から毛髪を採取し、その毛根部 3 本からゲノム DNA を抽出した。

②Genotyping 反応液の調製

氷上で、鋳型 DNA を加えていない反応液を 21 µl 分注した後、DNA 抽出液 4 µl を添加した。

【反応液組成】

10×*Bst* Reaction Buffer	2.5 µl
dNTPs Mixture (25mM each)	1.4 µl
Primer Mix rs671	2.5 µl
Genotyping Probe rs671	2.5 µl
Bst DNA Polymerase	1.0 µl
DNA抽出液（毛根ゲノムDNA）	4.0 µl
d.d. H_2O	Up to 25.0 µl

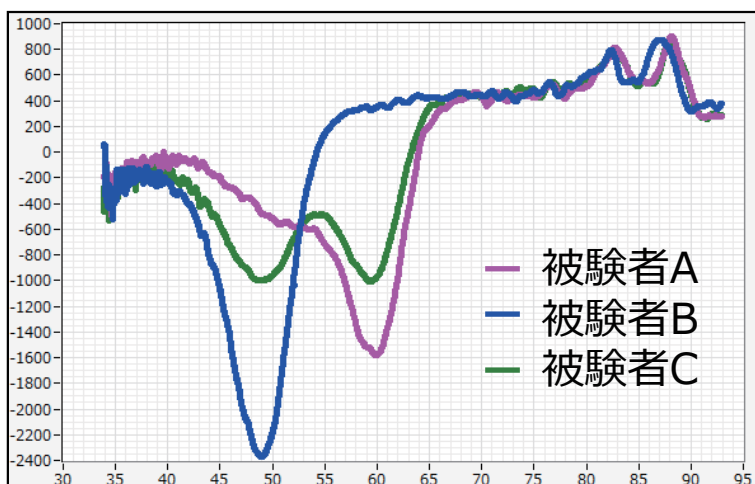
③標的遺伝子の増幅反応

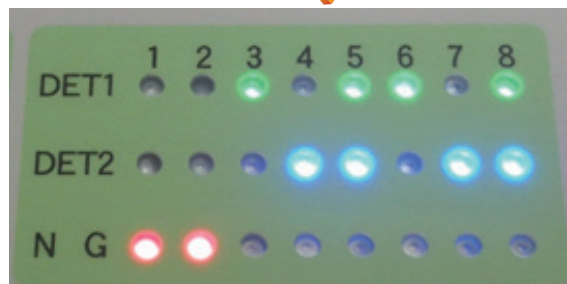
LF-8 に②で調製したチューブをセットし、反応を開始した。

【反応条件】

増幅	68 ℃、30分間
酵素失活	98 ℃、5分間
会合曲線解析	94 ℃→ 35℃

LAMP-FLP 遺伝子多型解析システム
LF-8

④遺伝子多型の検出（会合曲線解析）

装置内で会合曲線を描き、SNPs を自動解析

解析結果を LED ランプの点灯パターンで示す。

レーン1、２：空チューブの為、反応エラー表示
レーン3、６（被験者Ａ）：フルマッチホモ（代謝が早い）
レーン4、７（被験者Ｂ）：ミスマッチホモ（代謝が出来ない）
レーン5、８（被験者Ｃ）：ヘテロ（代謝が遅い）

【装置仕様】

項目		仕様
サンプル数		8 ウェル x 1
サンプルの容量		25 μl
外形寸法		縦 260 mm x 横 170 mm x 高さ 127.5 mm (蓋を開けた時の高さ 177.5 mm)
重量		2.3 kg
電源		DC 12 V 30 W
温度調節	加熱方法	ロッドヒーターによる間接加熱方式
	冷却方法	ファンによる空冷方式
	調節範囲	サンプルホルダ：常温 (最低 10℃)-100℃ (最大 110℃) 蓋：サンプルホルダより 5+℃
	温度分解能	0.1℃
	温度分布	40℃の場合：1.0℃ 70℃の場合：1.5℃ 100℃の場合：2.0℃
濁度検出	方式	LED、フォトセンサを用いた透過式光測定法
	光源	LED ピーク波長 465 nm
	検出器	フォトダイオード
	サンプリング時間	1 秒 / 回
蛍光検出	方式	LED、フォトセンサ、フィルタを用いた拡散式蛍光測定法
	光源	LED ピーク波長 465 nm
	検出器	フォト IC
	フィルタ	ロングパスフィルタ 境界波長 520 ±5 nm (T = 50%)
	サンプリング時間	1 秒 / 回 - 5 秒 / 回
表示		LED
外部通信機能		RS-232C
その他の機能		カレンダー機能、パラメータ設定、測定データ収集、測定結果収集、他
環境温度		20℃-30℃ (推奨温度 25℃)

【専用ソフトウェア（LF-8 Manager）について】

LF-8 本体の反応条件を変更するには、PC と接続して専用ソフトウェア（LF-8 Manager）を使用して
反応条件を入力する必要がございます。

項目	必要条件
推奨環境	Windows 7、Windows 8 において動作確認をしております。 但し、推奨環境すべての PC について動作を保証するものではありません。
ソフト起動に必要なアプリケーション	.NET Framework（Microsoft 社が配布） Windows 7、Windows 8 は 4.5 以上をインストールして下さい。
LF-8 本体の PC 接続に必要なドライバ	RS-232C ケーブル用ドライバ

性能等・技術的なご質問は以下にお問い合わせ下さい

株式会社ニッポンジーン
[Address] 〒930-0834 富山県富山市問屋町1丁目8番7号
[T E L] 076-451-6548
[F A X] 076-451-6547
[U R L] http://nippongene-analysis.com
[E-mail] support@nippongene-analysis.com

記載内容及び写真の複製、転載を禁止します。 Copyright (C) 2013 NIPPON GENE CO., LTD. All Rights Reserved.